



**Rapport fra forprosjekt;  
Farge pre-rigor røykt laks -  
litteraturoppsummering**

**Hovedprosjekt:**

**"Fargeegenskaper i muskel ved pre-rigor produksjon av røykt laksefilet"**

# FORPROSJEKTRAPPORT

	<i>Tilgjengelighet:</i> <b>ÅPEN</b>	<i>Rapp. nr.:</i> 1
<i>Tittel</i> <b>Rapport fra forprosjekt; Farge pre-rigor røykt laks – litteraturoppsummering</b> Litteraturgjennomgang vedrørende stress og utmatting av fisken før/under slakting og kvalitetseffekter etter slakting	<i>Dato:</i> Januar 2009	
	<i>Antall sider og bilag:</i> 25	
<i>Forfatter(e):</i> Leif Akse, Sveinung Birkeland	<i>Prosjektnr.:</i> 20637 / 1155	
<i>Oppdragsgiver:</i> NSS	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> Kristin Lauritzen	
<i>Stikkord:</i> Laks, stress, kvalitet, blod, farge, astaxanthin	<i>Går til:</i> Prosjektdeltakere og arkiv	
<i>Sammendrag:</i>  Felt som skal belyses i forprosjektet er: <ul style="list-style-type: none"><li>• Hvordan slaktestress kan påvirke kvalitetsegenskaper som: Rigor mortis, restblod i muskelen, farge, drypptap, spalting, konsistens, osv.</li><li>• Hvordan prosessering (salting, røyking, lagring) påvirker filetfarge og retensjon av carotenoider (astaxanthin), samt lipidoksidasjon.</li><li>• Test av mulige nye hurtigmatoder for måling av blod og harskning i intakt muskel (eget dokument)</li></ul>		



## Nofima Marin AS

Postboks 6122, NO-9291 Tromsø

Besøksadresse: Muninbakken 9–13

Tlf.: 77 62 90 00, faks: 77 62 91 00

[marin@nofima.no](mailto:marin@nofima.no)

[www.nofima.no](http://www.nofima.no)



## Nofima Norconserv AS

Rickard Johnsensgate 4

4021 Stavanger

[post.st@nofima.no](mailto:post.st@nofima.no)

[www.nofima.no](http://www.nofima.no)

## Innholdsfortegnelse

1	Innledning .....	1
2	Abstracts – effekt av stress på kvalitet.....	2
3	Abstracts - effekt av prosessering på innhold av carotenoider og fargeegenskaper.....	10
4	Oppsummering .....	17
4.1	Stress/utmatting: effekt på restblod og blodflekker i muskel.....	17
4.2	Stress/utmatting: og effekt på farge hos laks.....	17
4.3	Stress/utmatting: effekt på andre kvalitesegenskaper generelt.....	18
4.4	Prosessering/lagring: effekt på instrumentell farge .....	21
4.5	Prosessering/lagring: effekt på retensjon av carotenoider (astaxanthin).....	21
4.6	Lipidoksidasjon og carotenoider i prosesserte produkter.....	22
5	Referanseliste .....	23

# 1 Innledning

Hovedmålene i prosjektet "Fargeegenskaper i muskel ved pre-rigor produksjon av røkt laksefilet" er å dokumentere:

Effektene av ulike prosesstrinn i en kaldrøykingsprotokoll (salting, tørking, røyking, lagring) på viktige kvalitetsegenskaper som muskelfarge, retensjon av astaxanthin og oksidasjonsstatus i ferdige, pre-rigor prosesserte, røkte produkter.

Effekter av slaktebetingelser, som grad av slaktestress og utblødning, på kvalitetsegenskaper (spesielt på muskelfarge, retensjon av astaxanthin og oksidasjonsstatus) i pre-rigor prosesserte røkte produkter.

Gjennomføringen av prosjektet deles inn i to faser:

Forprosjekt (oppsummering av relevant litteratur, vurdering av analysemetoder, og planlegging av hovedprosjektet i samarbeid med oppdragsgiver).

Hovedprosjekt – gjennomføring av eksperimentelt og analytisk arbeid.

Viktige felt som skal belyses i forprosjektet er:

Hvordan slaktestress kan påvirke kvalitetsegenskaper som rigor mortis, restblod i muskel, farge, drypptap, spalting og konsistens; gjennomgang og sammenfatning av litteratur.

Test av mulige nye hurtigmetoder for måling av blod og harskning i intakt muskel (eget dokument)

Hvordan prosessering (salting, røyking, lagring) påvirker filetfarge og retensjon av carotenoider (astaxanthin), samt lipidoksidasjon.

Valg av analysemetodikk i hovedprosjektet blir basert på den innsamlede informasjonen.

Basert en slik oppsummering i forprosjektet vil potensielt gjentakende forskningsaktivitet unngås og strategiske valg mht forsøksdesign, analysemetodikk og forsøksresponser blir enklere. I tillegg vil behovet for å evt. koble inn annen relevant kompetanse i prosjektet, både fra Nofima-systemet og utenfor, bli avdekket.

Arbeidet er utført i form av et litteratursøk etter relevante arbeider publisert internasjonalt og nasjonalt. Funn og konklusjoner i publikasjonene som er relevante i forhold til vår problemstilling er sammenfattet i korte abstracts, som igjen er sammenfattet tematisk i siste del av notatet.

## 2 Abstracts – effekt av stress på kvalitet

### **Erikson U, Sigholt T, Seland A. (1997). Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*).**

Atlantisk laks, snittvekt 5,1 kg, ble transportert/lagret levende med brønnbåt i 5,5 timer (tetthet 125 kg/m<sup>3</sup>) fra merd til slakteri, der fisken ble bedøvet med CO<sub>2</sub> og slaktet.

Anaerobisk aktivitet i muskel ble målt som indikasjon på stress; før transport, etter transport (rett før bedøving) og ca 1 time etter avliving.

Vannkvaliteten (pH, salinitet, temperatur, oksygen, CO<sub>2</sub>, osv..) ble dokumentert; i merd, i brønnbåt og i bedøvelseskar.

Ingen dramatiske tegn på stress ble observert, noe som indikerer at transport og slaktning i dette tilfelle ikke hadde negativ effekt på muskelkvaliteten. En forklaring på dette kan være at brønnbåten var i stand til å opprettholde god vannkvalitet gjennom hele transporten og at håving fra brønnbåt til slaktelinje foregikk raskt og effektivt. CO<sub>2</sub> bedøvelsestanken ble kjørt på en effektiv måte som gav minimale panikk-/fluktreaksjoner hos fisken før avliving. Det ble imidlertid målt signifikant fall i pH i fisken fra rett før CO<sub>2</sub> bedøving til ca 1 time etter avliving (fra pH 7,4 til pH 7,0).

### **Skjervold P.O, Fjæra S.O, Østby Braarud P. (1999). Rigor in Atlantic salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter.**

Forsøket evaluerer effekter på muskelkvalitet *post mortem* hos laks som ble utsatt for slaktestress gjennom høy tetthet (<50 vs. >300 kg/m<sup>3</sup>), før 45 min levendekjøling ved 1°C.

Både før og etter levendekjøling ble det målt signifikant høyere verdier for cortisol, laktat og osmolalitet i blodet hos fisken i gruppen med høy tetthet. Glykogen nivået var meget lavt i muskelen i begge gruppene (høy og lav tetthet) både før og etter levendekjøling.

Som følge av ulikt stressnivå før levendekjøling var det forskjell mellom gruppene med lav og høy tetthet med hensyn til rigorstyrke. Både rigorinnngang og oppløsning av rigor ble fremskyndet som følge av høy fisketetthet (crowding stress).

### **Robb DHF, Kestin SC, Warriss PD. (2000). Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout.**

Dette forsøket fokuserte på hvordan høy muskelaktivitet kan innvirke på muskelkvaliteten til fisk, særlig kvalitetsegenskaper som farge, tekstur og spalting. Elektrisk stimulering *post -mortem* ble benyttet som metode for å simulere muskelaktivitet.

Første 40 timene etter slakting var muskel-pH betydelig lavere i fisken som var elektrostimulert, sammenlignet med den som ikke var det.

Resultatene viser videre at elektrostimulering av 1,5 kg regnbueørret straks etter slakting ikke bare resulterte i forkortet pre-rigor tid, men også muskelfargen ble påvirket. Instrumentell fargemåling viste at muskelen ble signifikant lysere og mindre rød. Også chroma verdien økte. I likhet med den instrumentelle målingen viste også LaRoche fargekort lavere score for rødhet for fisken som var elektrostimulert, sammenlignet med den som ikke var det.

Det var også mer spalting i filetene fra fisk som hadde vært utsatt for elektrostimulering. Til sammen indikerer dette at elektrostimulering post-mortem reduserer muskelkvaliteten til fisk.

**Skjervold P.O, Fjæra S.O, Braarød Østby P, Einen O. (2001). Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*).**

Stresseffekt av høy fisketetthet kombinert med levendekjøling (1°C i 1 time) ble undersøkt. Fire grupper fisk: (1) ubehandlet før slakting, (2) høy tetthet, (3) levendekjølt, (4) høy tetthet kombinert med levendekjøling.

Både høy tetthet og levendekjøling økte signifikant nivået av cortisol, laktat og osmolalitet nivå i blodplasma, noe som indikerer at begge deler stresset fisken før slakting.

Levendekjøling påvirket signifikant forløpet av *rigor mortis* ved at laksen som ble kjølt levende i dette forsøket hadde forsinket rigorinnngang og lavere maksimal rigorstyrke enn laksen som ikke ble kjølt levende. Dette var tilfelle uansett om laksen før kjøling var utsatt for høy tetthet eller ikke. Høy tetthet før levendekjøling førte imidlertid til raskere inngang og raskere oppløsning av rigor (kortere tid i rigor), enn hos fisk som ikke var utsatt for høy tetthet (crowding stress) før kjøling.

Gruppene som ble utsatt for høy tetthet hadde høyere pH i muskelen 5 og 14 dager etter slakting, enn gruppene som ikke var utsatt for høy tetthet.

Teksturanalyser av fileter etter 5 dager på is viste tendens til at bruddstyrken økte ved høy fisketetthet (stress), og at kompresjons-gradienten økte signifikant som følge av levende kjøling. Disse forskjellene var ikke til stede etter 14 dager kjølelagring. Det var også en tendens til at levende kjøling økte graden av spalting, målt 5 døgn etter slakting.

Høy ultimativ muskel-pH (p.g.a lavt glykogen ved avliving) og hard tekstur betegnes i kjøttbransjen som DFD. Resultatene i dette forsøket indikerer at forårsaket av stress som følge av høy fisketetthet før slakting kan lignende negative kvalitetseffekter oppstå også hos laks og at levendekjøling til en viss grad kan forebygge dette.

**Robb DHF, Phillips AJ, Kestin SC. (2003). Evaluation of methods for determining the prevalence of blood spots in smoked Atlantic salmon and the effect of exanguination method on prevalence of blood spots.**

I undersøkelsen ble laks bløgget på 9 ulike måter sammenlignet mot hverandre og mot ubløgget laks som kontrollgruppe, med hensyn til forekomsten av blodflekker i filetene. Det ble utviklet en ny og effektiv metode for slik kontroll av blodflekker, basert på salting, slicing og direkte telling av blodflekker. Resultatene viste at bløgging reduserte forekomsten av blodflekker. Det ble imidlertid ikke funnet noen klar sammenheng mellom bløggemetode og blodflekker i filetene.

Selv om blodtapping påvirket forekomsten av blodflekker i røkt laks ble det konkludert med at også andre ukjente faktorer hadde innvirkning (f. eks slaktestress?).

**Kissling A, Espe M, Ruhonen K, Mørkøre T. (2004). Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO<sub>2</sub> anaesthesia.**

Atlantisk laks ble slaktet under tradisjonell CO<sub>2</sub> bedøving (høyt stress) og to-steps iso-eugenol bedøving (lavt stress), før utblødning og nedkjøling i kjølt sjøvann.

Produktkvalitet ble analysert på fileter 5 døgn etter avlaving (lagret i is) og på koteletter etter 12 mnd fryselagring (-25 °C) av hel fisk.

Islagret filet (5 d p.m.): Ingen forskjell i spalting mellom CO<sub>2</sub> og Eugenol. Instrumentell fargemåling viste at fisken bedøvet i CO<sub>2</sub> var bløtere, litt mer rød og litt mer gul i muskelen, enn fisken som var bedøvet med Eugenol.

Koteletter etter fryselagring (12 mnd p.m.): Bekreftet for så vidt samme forskjeller som i kjølelagrede fileter. Koteletter av fisk som var bedøvet med Eugenol var fastere og mindre rød (blekere), enn koteletter av fisk som var bedøvet med CO<sub>2</sub>. Videre hadde frosne/tinte koteletter av Eugenol-bedøvet fisk høyere muskel-PH og lavere drypptap enn tinte koteletter av laks som var bedøvet med CO<sub>2</sub>.

**Poli B.M, Parisi G, Scappini F, Zampacavallo G. (2005). Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management.**

Oversiktsartikkelen sammenfatter publiserte resultater om effekter av ulike kommersielle slaktemetoder for fisk; på stressindikatorer og på fysiske og biokjemiske parametere for muskelkvalitet hos ulike arter av oppdrettsfisk.

Tilgjengelige data indikerer, om enn ikke entydig, at protokoller (fremgangsmåter) som påfører fisken mye stress/utmattning før og under slakting kan ha både stor og viktig effekt på muskelkvaliteten hos fisken etter slakting.

Effekter som fremgår av litteraturen er at med hensyn til fysiske egenskaper så vil alvorlig stress/utmattning produsere mer melkesyre i muskelen som resulterer i lavere

pH og raskere inngang i *rigor mortis*. På denne måten kan det ha signifikant effekt på muskelens teknologiske egenskaper, produktkvalitet og egenskaper under lagring.

Fisk som ble bedøvet/avlivet med asphyxia eller elektrisitet var mer stresset enn fisk som ble bedøvet med slag i hodet, en bolt gjennom hjernen (spiking); eller som ble kjølt levende.

Litteraturen indikerer at en kombinasjon av flere slaktemetoder kan være en bedre løsning både med hensyn til fiskevelferd og produktkvalitet (muskelkvalitet).

### **Olsen S.H, Sørensen N.K, Stormo S.K, Elvevoll E.O. (2006). Effect of slaughter methods on blood spotting and residual blood in fillets of Atlantic salmon.**

Blodflekker i ferske og røkte laksefileter er et kvalitetsproblem. Målet i dette arbeidet var å undersøke om slakteprosedyren hadde effekt på mengden av restblod (hemoglobin) og antall blodflekker i laksefileter.

Den modifiserte Hornsey (1956) metoden som ble brukt til å måle mengde blod i filet viste seg å være godt egnet til dette. Mengden gjenværende blod i filetene var påvirket av bedøvings- og avlivingsmetode.

Laks som ble levendekjølt før bedøving med CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> og deretter sløyd direkte hadde mindre restblod i filetene (P<0,05) enn laks som ble bedøvet, bløgget (gjellekutt) og utblødd i mer stressende standard industriprosedyrer. Bruk av CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> bedøving på levendekjølt fisk som ble bløgget/avlivet med gjellekutt reduserte muskel-pH og resulterte ikke i mindre gjenværende blod i fileten sammenlignet med levendekjølt fisk som ikke ble bedøvet før avliving med gjellekutt.

Blodets koaguleringsstid ble sterkt påvirket av temperatur, ved lav temperatur ble koaguleringsstiden forlenget slik at blodet var flytende opp til 1 time, noe som sannsynligvis påvirket utblødningen positivt.

### **Erikson U, Hultmann L, Steen J.E. (2006). Live chilling of Atlantic salmon (*Salmo salar*) combined with mild carbon dioxide anaesthesia. I. Establishing a method for large-scale processing of farmed fish.**

Målet med denne studien var å undersøke kombinert effekt av levendekjøling og CO<sub>2</sub> som metode for sedatering/bedøving av laks i en kommersiell slaktelinje. Fisk direkte fra merd ble sammenlignet med levendekjølt fisk fra RSW-tanker uten og med tilsetning av CO<sub>2</sub>. Effekt av pumping på blodårer og gjellebuer ble også undersøkt.

Under de aktuelle slaktebetingelsene (levende kjøling delta-T SW/RSW 8-10°C, oksygen-metning >60 % og moderat CO<sub>2</sub> mengde på 37-89 mg l<sup>-1</sup>), var det mulig å prosessere laks uten å påføre den stress. Konsekvensen av dette var at fisken hadde en lang pre-rigor periode på ca 24 timer, som gav rikelig tid til pre-rigor prosessering.



Det ble ikke påvist negative effekter på blodårer i gjellene eller på muskelkvaliteten i filetene. Fisk som ble behandlet på den aktuelle måten under levendekjøling og slaktning skilte seg ikke fra fisk som ble hentet direkte fra merden.

Med hensyn til slaktestress ble metoden med kombinert levendekjøling og moderat CO<sub>2</sub> tilsetning i RSW-tank funnet å være bedre enn tradisjonell CO<sub>2</sub> bedøving (høy CO<sub>2</sub> konsentrasjon i et eget bedøvingskar).

**Roth B, Slinde E, Arildsen J. (2006). *Pre or post mortem* muscle activity in Atlantic salmon, the effect on *rigor mortis* and the physical properties of flesh.**

For å undersøke kvalitetseffekter av *pre mortem* muskelaktivitet (stress) og *post mortem* elektrostimulering, ble det gjennomført tre forsøksrunder der 30 lakser i hver runde ble slaktet. 10 av fiskene ble stresset/utmattet før slaktning mens de 20 andre ble slaktet uthvilte, uten stress. Fra gruppen av ustresset fisk ble 10 av de 20 fiskene etter avliving utsatt for elektrostimulering (*post mortem*).

Som kvalitetsindikatorer ble følgende målinger utført *post mortem*: *Rigor mortis*, tekstur (skjærkraft), spalting, farge og dryp tap.

Resultatene viser at laksene som ble elektrostimulert *post mortem* (ikke stresset), hadde den raskeste inngangen i rigor (2–4 timer). Laksene som ble stresset/utmattet hadde noe lengre pre-rigor tid (4–24 timer), mens de ustressede fiskene som ikke ble elektrostimulert *post mortem* hadde lengst pre-rigor tid (12–36 timer) og svakest rigorstyrke.

Det var ingen forskjell mellom de elektrostimulerte (ustressede) laksene og de ustressede (ikke elektrostimulert) med hensyn til skjærkraft, spalting eller dryp tap. De stressede (utmattede) fiskene hadde derimot signifikant høyere dryp tap, mer spalting og bløtere tekstur enn fiskene som var uthvilte før slaktning.

Med hensyn til farge var den (ustressede) gruppen som ble elektrostimulert *post mortem* mer rød enn både den stressede fisken og den ustressede som ikke ble elektrostimulert.

**Giuffrida A, Pennisi L, Ziino G, Fortino L, Valvo G, Marino S, Panebianco A. (2007). Influence of Slaughtering Method on Some Aspects of Quality of Gilthead Seabream and Smoked Rainbow Trout.**

Kvalitetseffekter av flere slaktemetoder ble undersøkt på fersk og røkt ørret og på gilthead seabream under lagring ved 2 °C.

Regnbueørret ble slaktet i tre slakteprosesser; elektrisk bedøving, gjellekutt u/bedøving og anoxia i is-slurry. Etter slaktning ble fisken sløyd, vasket og kjølt ett døgn i is, før den ble røykt ved 60 °C i 8 timer. Etter røyking ble produktene vakuumpakket. Både rå og røykte prøver ble lagret ved 2 °C i 28 døgn.

Gilthead seabream ble håvet ut av en oppdrettstank og slaktet i tre ulike prosesser:

Fisken ble håvet over i en tank fylt opp med en 1:1 blanding av is og vann.  
Fisken ble håvet over i en tank fylt med vann, temperatur 18 °C, som deretter ble tilført CO<sub>2</sub> (etter at fisken var håvet over).  
Fisken ble håvet over i en tank med samme vannmengde og temperatur som 2., men der vannet på forhånd var mettet med CO<sub>2</sub>.

Fisken fra de tre tankene ble etter avliving lagret ved 2 °C i 8 døgn. Resultatene viser at regnbueørret som ble elektrisk bedøvet hadde langsommere reduksjon av ATP i rå muskel og lavere fettoksidasjon i det røkte produktet enn fisk fra de to andre slaktemetodene for ørret. Gilthead seabream som ble tømt direkte ned i issørpe (IS) forløp hadde langsommere og jevnere nedbrytingen av ATP enn gruppene som ble bedøvet/avlivet i CO<sub>2</sub>. Avlivingen tok imidlertid kortere tid (5 min) i CO<sub>2</sub> gruppene enn i is-gruppen (15-20 min). Som for ørreten hadde Sea bream gruppen med langsom nedbryting av ATP (is-gruppen) lavere fettoksidasjon (harskning) under kjølelagring etter slaktning. For begge arter kan dette komme av at rask nedbryting av ATP induserer rask omsetning av xanthine dehydrogenase til xanthine oxidase, som ved tilstedeværelse av redox jern og oksygen kan produsere hydrogen peroxide og videre hydroxyl radikaler.

#### **Roth B, Øines S, Rotabakk B.T, Birkeland S. (2008). Using electricity as a tool in quality studies of Atlantic salmon.**

Forfatterne refererer til tidligere undersøkelser har vist at muskelkvaliteten hos Atlantisk laks avhenger av sesong og gytemodning. I tillegg avhenger muskelkvaliteten av fisken metabolske status ved avliving, som igjen blir påvirket av sulting og *pre mortem* muskelaktivitet (utmattning). Sulting og særlig *pre mortem* muskelaktivitet fremskynder *rigor mortis*, gir hurtig fall i pH, øker drypptapet, gir bløtere muskel, mer filetspalting og redusert holdbarhet (2, 6, 8, 11).

Det er vanskelig å lage gode forsøksoppsett for å studere effekt av utmattning og tømning av energilagrene hos fisk. Fisk reagerer individuelt og ulikt på en gitt stressfaktor som den blir påført. I dette forsøket ble derfor *post mortem* elektrostimulering av fiskemuskel testet som en interessant metode for på en konsistent måte å simulere effekt av pre-rigor muskelaktivitet (utmattning) med hensyn til graden av bløt muskel. Ved å påføre nyslaktet laks en elektrisk stimulering, kunne graden av anaerob metabolisme manipuleres avhengig av antall elektriske pulser, frekvens og tid.

For å studere effekt av anaerob muskelaktivitet på muskelkvaliteten ble 18 uthvilte lakser avlivet og filetert umiddelbart. Den ene fileten ble brukt som kontrollgruppe mens den andre fileten ble stimulert elektrisk (10 V, 5 Hz pDC) i 3 minutter. Vekt og muskel pH ble registrert før filetene ble pakket i aluminiumsfolie og lagret på is i 7 døgn, da muskel PH, vekt ble målt på nytt. Farge og tekstur ble også målt.

Resultatene viste at elektrisk stimulering fikk filetene til å trekke seg sammen og muskel pH falt med 0,5 enhet, noe som resulterte i høyere drypptap og tap av farge. Parvis sammenligning av filetene fra samme fisk styrket observasjonen av at den simulerte muskelaktiviteten (elektrisk stimulering) førte til drypptap og fargetap, men også til en bløtere tekstur.

Det blir konkludert med at elektrisk stimulering *post mortem* er en godt egnet metode for å simulere anaerob muskelaktivitet, som gjør det mulig å sammenlignende studier basert på ett og samme individ (høyre og venstre filet fra samme fisk).

**Mørkøre T, Pablo I, Mazo T, Tahirovic V, Einen O. (2008). Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*).**

Den ene av to grupper oppdrettslaks (*Salmo salar*) ble foret til metning i 35 dager, mens den andre gruppen ble sultet like lenge. Ved slakting ble hver av gruppene delt i to, der den ene ble utsatt for akutt slaktestress men s den andre ble håndtert skånsomt før slakting. Rigor utvikling, post-mortem energimetabolisme, muskel-pH, drypptap og farge ble målt under 72 timer kjølelagring etter slakting.

Slaktestress akselererte rigorutviklingen, stimulerte dannelsen av laktat gjennom post-mortem glycolysen og økte nedbrytingen av ATP og CP. Effekten av stress på rigorutviklingen var mindre uttalt i laksen som var sultet enn i den som var foret. Det var signifikant sammenheng mellom ernæringsstatus og stress. Rigor utviklingen var nært knyttet til nedbrytning av ATP. Akutt slaktestress fremskyndet utvikling av bløt konsistens under kjølelagring. Etter 72 timer hadde filetene av den sultede gruppen som var håndtert skånsomt før slakting (ikke stresset) den signifikant fasteste konsistensen, mens gruppen som var sultet og stresset var den som hadde mest intens rødfarge (La Roche) etter lagring i 72 timer. Drypptapet under kjølelagring var lavere i den sultede gruppen, mens slaktestress ikke hadde signifikant effekt på drypptapet.

Forfatterne konkluderer med at sulting i 5 uker kan forbedre laksens evne til å tåle slaktestress, slik at dette i mindre grad fremskynder inngang i *rigor mortis*.

**Olsen S.H, Sørensen N.K, Larsen R, Elvevoll E.O, Nilsen H. (2008). Impact of pre-slaughter stress on residual blood in fillet portions of farmed Atlantic cod – Measured chemically and by Visible and Near-infrared spectroscopy.**

Målet var å undersøke om torsk (*Gadus morhua*) som blir utsatt for stress/utmattning før slakting ville ha mer restblod i filetene enn torsk som ikke ble utsatt for stress. Forsøket omfattet fire grupper oppdrettsorsk: ustresset og ubløgget (uu), ustresset og bløgget (ub), stresset og ubløgget (su) og stresset og bløgget (sb).

Det viste seg vanskelig å stresse/utmatte torsken før slakting og det var ikke signifikant forskjell i muskel-pH i torsken som ble forsøkt stresset og den som ikke ble stresset.

Som ventet var det signifikant mer restblod, målt som hem-pigment, i filetene av ubløgget torsk enn i bløgget, både i den som var stresset og den som ikke var stresset.

I hvit muskel hadde den bløggede gruppen som ikke var stresset (ub) signifikant lavere innhold av hem-pigment (hovedsakelig hemoglobin) i loins og senterkutt

delene av fileten, enn den tilsvarende gruppen som var stresset (sb). Dette var den eneste signifikante forskjellen mellom gruppene som var stresset og de som ikke var det.

I forsøket ble det også undersøkt om VIS/NIR spektroskopi kan være en egnet metode for å måle restblod i fileter. Kjemisk måling av hem-pigment ble brukt som referansemethode. Det ble påvist korrelasjon mellom VIS/NIR spektroskopi og kontrollmetoden, som viser at det kan utvikles en spektroskopisk metode for hurtig måling av restblod i intakt muskel av torsk.

### 3 Abstracts - effekt av prosessering på innhold av carotenoider og fargeegenskaper

Under primær- og sekundærprosessering av laksefisk kan avbleking og misfarging av muskelens carotenoider forekomme. Graden av avbleking i rå og videreforedlede produkter kan variere fra liten til total ødeleggelse av produktet (Bilde 1), men inkluderer for eksempel dårlig innfarging (pigmentering), misfarging, flekkvis depigmentering og "zebra-striper". Misfarging av røykte lakseprodukter er alvorlig i den grad at dette oppfattes av forbrukeren som meget negativt og "symboliserer dårlig kvalitet". Produktets farge er en nøkkelparameter når det gjelder å påvirke forbrukerens oppfatning av kvalitet og en avgjørende faktor i kjøpsituasjoner. Undersøkelser har vist at forbrukeren oppfatter at det er en sammenheng mellom godt innfarget laks og ferskhet, god smak, bedre kvalitet og høyere pris (Anderson 2000). Med hensyn til produkter av laksefisk, har forbrukeren generelt relativt sterke preferanser for jevnt rødfargede produkter og farge blir derfor ansette som en av de viktigste kvalitetskarakterene for laks og lakseprodukter. Derfor er det viktig å bevare produktets farge gjennom de ulike prosesseringstrinn og å øke forståelsen vedrørende faktorer som bidrar til fargeendringer ved primær- og sekundærprosessering.

Det er velkjent at laksefisk akkumulerer store mengder astaxanthin og canthaxanthin i muskelen, som er årsaken til laksefisks røde muskelfarge. Andre carotenoider som er vanlig i muskel hos laksefisk er zeaxanthin, cynthiixanthin,  $\beta$ -doradexanthin og diatoxanthin (Henmi et al. 1989). I muskelen antas det at  $\beta$ -ionone ringen av astaxanthin binder seg til et hydrofobisk bindingssete på overflaten av actomyosin-proteinkomplekset (Henmi et al. 1989; Henmi et al. 1987), som er en ikke-vannløselig fraksjon med opprinnelse fra myofibrilproteiner. Nyere forskningsresultater indikerer at det i tillegg er andre proteinfraksjoner som har større affinitet enn actomyosin til å binde astaxanthin (Saha et al. 2005; Saha et al. 2006).



**Bilde 1.** Avfarging av røykt laks.

Nedenfor er det oppsummert sentral litteratur i forhold til effektene av prosessering (salting, tørking/røyking og lagring) på fargeegenskaper og carotenoidinnhold i røykte lakseprodukter. Det finnes relativt mye litteratur som beskriver fargeendringer i produktet som følge av ulike prosessering men litteratur som direkte undersøker retensjonen av carotenoider under prosessering finnes det relativt lite av.

**Choubert G., Blanc JM., Courvalin C. (1992). Muscle carotenoid content and color of farmed rainbow-trout fed astaxanthin or canthaxanthin as affected by cooking and smoke-curing procedures.**

Formålet med dette forsøket var å undersøke/kvantifisere effekten av en kaldrøykingsprotokoll på konsentrasjonen av carotenoider (astaxanthin og canthaxanthin) og fargeegenskaper i fileter fra slakteklar (4-5 kg) regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*).

Protokoll; filetene ble frosset ved -20°C i 2 dager før de ble tint i rennende ferskvann (2°C), tørrsaltet (3 timer) og tørket og røykt i henholdsvis 3 og 5 timer ved 20-25°C (Relativ fuktighet=60-70%).

Resultatene viser at røykeprosedyren fører til en gjennomsnittlig oppkonsentrering av carotenoidinnholdet på 36% (våtvekt) i de prosesserte filetene sammenlignet med rå fileter. Årsaken til dette tilskrives en gjennomsnittlig reduksjon av vanninnholdet i filetene under prosessering på 12 %. I tillegg reduseres filetenes fargetone (Hue angle) og lyshet (L\*) med henholdsvis 11 % og 15 % sammenlignet med fargen i rå fileter.

**Birkeland S., Haarstad I., Bjerkeng B. (2004). Effects of salt-curing procedure and smoking temperature on astaxanthin stability in smoked salmon.**

Forsøket undersøker stabiliteten av astaxanthin gjennom de ulike trinnene i en prosessprotokoll; salting, røyking og lagring (24 dager, 1°C), der saltemetode (tørrsalting vs. injeksjonssalting) og prosessstemperatur varieres (20 vs. 30°C).

Protokoll; filetene ble tørrsaltet (15 timer, 1°C) eller injeksjonssaltet (mettet saltlake, 1.5 bar) før tørking (150 min) og røyking (240 min) ved definerte betingelser (Tabell 1).

**Tabell 1.** Prosessbetingelser brukt i forsøket beskrevet av Birkeland et al. (2004).

<b>Protokoll</b>	<b>Kammer temp. (°C)</b>	<b>Relativ fuktighet (%)</b>	<b>Kjerne temp. (°C)</b>
Lav temp.	20.0±0.7	74.6±7.2	16.6±1.5
Høy temp.	29.8±1.3	69.6±5.0	25.5±3.3

Etter å ha korrigert for vektendringer som følge av de ulike prosesstrinnene ble det funnet at gjennomsnittlig retensjon av astaxanthin, uavhengig av prosessprotokoll, var på 87.4%. Det viser at ca. 13 % astaxanthin ble ekstrahert ut eller brutt ned under prosessering ved de gitte betingelsene. Det ble vist at saltetrinnet, både injeksjonssalting og tørrsalting, bidrar mest til det observerte tapet av astaxanthin.

Prosessering førte også til en endring i filetenes fargeegenskaper. Etter salting og røyking ble det observert en reduksjon i lyshet (L\*), rødhet (a\*) og fargetone (Hue angle), mens gulheten (b\*) og fargemetningen (C\*) økte. Saltinnholdet i de røykte filetene var på 3.4 %.

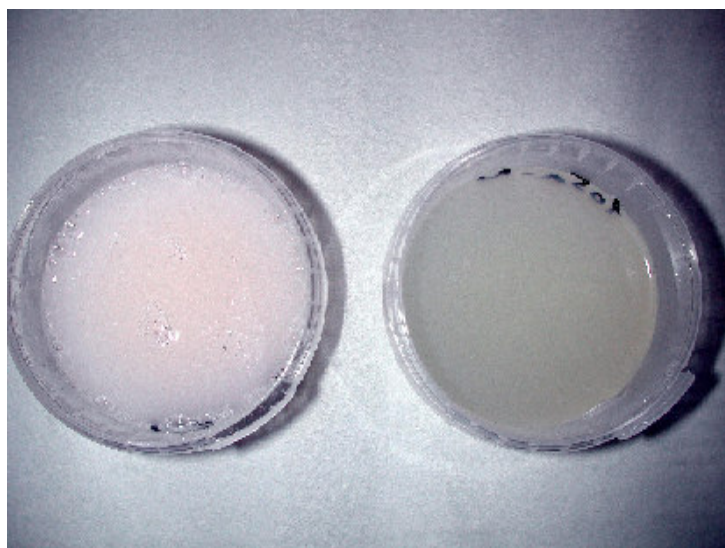
**Birkeland S., Bjerkeng B. (2004). Extractabilities of astaxanthin and protein from muscle tissue of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by brine concentration and pH.**

Forsøket undersøker om astaxanthin kan ekstraheres fra laksemuskel sammen med proteiner ved ulike pH betingelser og saltkonsentrasjoner fra laksemuskel i et modellsystem. Tidligere arbeider, (Henmi et al. 1987; Henmi et al. 1989) indikerer at astaxanthin binder seg via uspesifikke hydrofobe bindinger på overflaten av actomyosin-komplekset i muskelen hos laksefisk.

Det ble vist at astaxanthin og proteiner ble ekstrahert (Bilde 2) i nærheten av nøytral pH og ved saltkonsentrasjoner opp til 4M. Det ble funnet høy korrelasjon ( $R^2=0.82$ ) mellom total mengde protein ekstrahert og mengde astaxanthin ekstrahert. Opp til ca. 21 % av den totale mengden carotenoid i muskelen ble ekstrahert ut sammen med proteiner i 1M saltlake.

Det ble også funnet nivåer av astaxanthin i den vannløselige proteinfraksjonen, noe som kan indikere et vannløselig astaxanthin-proteinkompleks.

Bruk av saltlake <4 M ved nøytral pH og vasking av fileter med vann kan bidra til en "utvasking" av astaxanthin under prosessering av laksefileter.



**Bilde 2.** Saltløselig (venstre) og vannløselig (høyre) proteinfraksjon etter proteinekstraksjon fra laks i modellsystem.

**Birkeland S., Bjerkeng B. (2005). The quality of cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as affected by salting method, time and temperature.**

Forsøket undersøker effekten av ulik saltetid (6, 12, 24 t), temperatur (4 og 10°C) og lakekonsentrasjon (12.5 og 25%) på fargeegenskaper og astaxanthinnivå i lagesaltet kaldrøykt laks.

De saltede filetene ble lagret i 12 timer (4°C) før kaldrøyking ved et kommersielt røykeri. Filetene ble tørket i 8 timer (25°C) før røyking i 12 timer (<26°C). Før analyse av farge og astaxanthinnivå ble filetene lagret vakuumpakket i 14 dager (4°C). Farge ble målt instrumentelt (Minolta L\*a\*b\*) og astaxanthin kjemisk (HPLC).

Resultatene viser at saltetemperatur hadde signifikant effekt på filetenes lyshet (L\*) og gulhet (b\*). Høy temperatur førte til signifikant mindre lyse og gule røykte fileter. Det ble ikke funnet noen signifikant effekt av temperatur på filetenes rødhet (a\*). Saltetid hadde signifikant effekt på samtlige fargeegenskaper som ble undersøkt. Økende saltetid førte til en reduksjon i filetenes lyshet, rødhet og gulhet. Ubetydelige effekter av lakekonsentrasjon på filetfarge ble observert.

I forhold til nivået av astaxanthin i de røykte filetene ble det funnet at økende saltetid førte til en signifikant nedgang i nivået. Etter 6 timers saltetid hadde filetene et nivå på 6.6 mg/kg, mens nivået etter 24 timers saltetid var på 5.9 mg/kg. Dette tilsvarer en reduksjon på ca. 11%.

**Chen H.M., Meyers S.P., Hardy R.W, Biede S.L. (1984). Color stability of astaxanthin pigmented rainbow trout under various packaging conditions.**

Formålet med denne studien var å undersøke effekten av ulike pakkemetoder; luft, vakuum og MAP (CO<sub>2</sub>) på carotenoidstabilitet, farge og lipidoksidasjon under lagring av rå regnbueørret (1-2°C, 14 dager). Carotenoid innholdet og lipidoksidasjon (TBA) ble undersøkt kjemisk, og fargen vurdert sensorisk (panel med 7 dommere).

Resultatene viser at etter 14 dagers lagring, så ble mellom 13 og 29 % av carotenoidet tilstede ved Dag 1 brutt ned (Tabell 2). Størst nedbrytning ble observert i porsjonene lagret i vacuum og MAP.

**Tabell 2.** Carotenoidinnhold i rå porsjoner ved dag 1 og dag 14 ved pakking i luft, vakuum og MAP (CO<sub>2</sub>) og lagring (1-2°C).

Pakkemetode	Carotenoid (mg/kg)		
	Dag 1	Dag 14	Reduksjon (%)
Luft	9.8±0.8	8.8±1.0	13
Vakuu	9.0±0.9	5.9±1.2	34
MAP (CO <sub>2</sub> )	7.8±1.1	5.5±1.6	29

Sensorisk vurdering av farge (rød) viser at en avbleking forekommer under lagring, og at lagring i CO<sub>2</sub> har størst effekt.

**Tabell 3.** Sensorisk score i rå porsjoner ved dag 1 og dag 14 ved pakking i luft, vakuum og MAP (CO<sub>2</sub>) og lagring (1-2°C).

Pakkemetode	Sensorisk score		
	Dag 1	Dag 14	Reduksjon (%)
Luft	8.9±0.5	8.7±0.5	2
Vakuu	8.6±1.1	8.3±1.0	3
MAP (CO <sub>2</sub> )	8.1±1.0	6.7±0.9	17



TBA verdiene etter 14 dagers lagring var desidert høyest i porsjonene som var lagret i luft (1.5 mgMAH/kg) sammenlignet med vakuumpakkning og MAP (0.8 mgMAH/kg).

**Gobantes I., Choubert G., Gomez R. (1998). Quality of pigmented (astaxanthin and canthaxanthin) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets stored under vacuum packaging during chilled storage.**

Formålet med forsøket var å undersøke farge- og carotenoid stabilitet i vakuumpakkede fileter av regnbueørret under lagring (4°C, 15 dager). Farge ble målt instrumentelt (Minolta L\*a\*b\*) og carotenoid (astaxanthin) kjemisk.

Resultatene viser at det ikke var noen signifikant endring i fargemetning (C\*) eller fargetone (Hue angle) under lagring, men filetene ble signifikant lysere (L\*) fra dag 1 til dag 15 (43.0 vs. 51.8).

Fra Dag 1 (7.2 mg/kg) til Dag 15 (5.4 mg/kg) ble astaxanthin innholdet redusert med 30 %. Det største tapet av astaxanthin ble observert fra dag 1 til dag 3, noe som sammenfalt med en økning i TBARS (lipid oksidasjon).

**Christophersen AG., Bertelsen G., Andersen HJ., Knuthsen P., Skibsted LH. (1992). Storage life of frozen salmonids. Effect of light and packaging conditions on carotenoid oxidation and lipid oxidation.**

Det ble undersøkt effekten av eksponering for lys (vanlig vs. UV) og emballasjens OTR (oxygen transmission rate, lav vs. høy) under fryselagring (-15°C, 6 mnd) av fileter fra regnbueørret på oksidativ degradering av astaxanthin og lipider og filetfarge. Astaxanthin ble målt kjemisk (HPLC), farge ble målt instrumentelt og lipidoksidasjon ble målt kjemisk (PV og TBARS).

Etter 6 måneders lagring ble det observert en reduksjon i innholdet av astaxanthin i prøvene som ble eksponert for UV lys (6.2-7.1 mg/kg) sammenlignet med prøver lagret mørkt (8.5 mg/kg) og i vanlig lys (8.2-8.6 mg/kg). Dette viser at eksponering av fileter for UV lys over lengre perioder fører til en nedbrytning av astaxanthin. OTR hadde ingen signifikant effekt på innholdet av astaxanthin.

Under lagring økte filetenes lyshet (L\*) samtidig som rødheten (a\*) ble redusert. I filetene eksponert for UV-lys ble a\*-verdien redusert ( $\Delta$ -a\*) med 6-7 fargeenheter mens for fileter lagret i vanlig lys og i mørket ble a\*-verdien redusert med henholdsvis 0.5-1 fargeenhet og 1-2 fargeenheter. Det var ingen signifikant forskjell i reduksjonen i a\*-verdi observert mellom fileter lagret i vanlig lys og i mørket. OTR hadde liten betydning for filetenes rødfarge.

Primær lipidoksidasjonsreaksjoner, beskrevet ved peroksidverdi (PV), ble påvirket av OTR (tilgang på oksygen) og av lys og økte med økende tilgang på oksygen og ved eksponering for UV lys. Generelt sett ble det observert økende PV frem til etter 3 mnd lagring. Deretter gikk PV ned, noe som indikerer at sekundære oksidasjonsreaksjoner dominerer fra 3-6 mnd lagring. Lagring i mørke med lav OTR gav signifikant lavere lipidoksidasjon.

**Choubert G., Dentella E., Atige C., Baccaunaud M. (2005). Effect of light on colour stability of sliced smoked rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fed astaxanthin.**

Forsøket undersøker fargestabiliteten (astaxanthin og overflatefarge) av vakuumpakket slicet røykt ørret ved lyseksposering (simulert som i butikk, 12 t per døgn) under lagring (15 dager, 2°C). Farge ble målt instrumentelt ( $L^*a^*b^*$ ) og astaxanthin målt kjemisk (spektrofotometrisk).

Lagringsbetingelser (lys vs. mørk) og lagringstid (dager) hadde signifikant effekt på lyshet ( $L^*$ ) og fargetone (Hue angle), der effekten av lagring påvirker endringen i farge mer enn effekten av lyseksposering. Økende lagringstid førte generelt sett til lysere fileter og en lavere fargetone (mindre gul). Det ble ikke funnet signifikante effekter av lysbetingelser og lagringstid på rødhet ( $a^*$ ), gulhet ( $b^*$ ) og fargemetning ( $C^*$ ).

Forfatterne av forsøket konkluderer med at verken lagringsbetingelser eller lagringstid signifikant påvirket nivået av astaxanthin og at det ikke kan bekreftes at astaxanthin opererer som en scavenger av frie radikaler under lipidoksidasjon. Lyseksposering førte til større lipidoksidasjon, TBARS, sammenlignet med fileter lagret i mørket.

**Holm K., Eikrem E. (1994). Ulike saltemetoders innvirkning på smak og tekniske egenskaper i røykt laks.**

Forsøket undersøker endringer i fargeegenskaper ( $L^*a^*b^*$ ) i laksefileter gjennom en tradisjonell produksjon av røykelaks.

Post rigor fileter av laks tørrsaltet (2 døgn) eller lakesaltet (15% saltlake, 2 t), tørkes på kjølerom (1 døgn, 4°C) før røyking (20-30°C, 7 timer). Filetene ble avkjølt på kjølerom (1 døgn, 4°C) før fargemåling av ferdig produkt.

Resultatene viser (Tabell 4) at de undersøkte saltemetodene reduserer filetenes lyshet ( $L^*$ ), rødhet ( $a^*$ ) og gulhet ( $b^*$ ). Tørrsalting fører til en større endring (reduksjon) i lyshet og rødhet sammenlignet med lakesalting. Endringen i gulhet er relativt lik uavhengig om det brukes tørr- eller lakesalting.

Etter røyking ser man at de lakesaltede filetene er markant mye lysere enn de tørrsaltede filetene. Små forskjeller i rødhet og gulhet mellom tørrsaltede og lakesaltede fileter observeres etter røyking, der røyking fører til en ytterligere nedgang i rødhet men en kraftig økning i gulhet.

**Tabell 4.** Fargeendringer i laksefilet etter de ulike prosesstrinn i en tradisjonell produksjon.

Prosesstrinn	$\Delta L^*$ - Tørrsalt	$\Delta L^*$ - Lakesalt	$\Delta a^*$ - Tørrsalt	$\Delta a^*$ - Lakesalt	$\Delta b^*$ - Tørrsalt	$\Delta b^*$ - Lakesalt
Etter salting	-2.75	-1.95	-3.63	-1.41	-5.08	-5.51
Etter røyking/total	-2.98	0.13	-3.75	-3.16	6.1	5.12

$\Delta L^*/a^*/b^*$  = fargeverdi etter hvert produksjonstrinn – fargeverdi i rå filet.

**Sheehan EM., Connor PO., Sheehy PJA., Buckley DJ., FitzGerald R. (1998). Stability of astaxanthin and canthaxanthin in raw and smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage.**

Formålet med forsøket var å undersøke effekten av røyking og fryselagring på stabiliteten av astaxanthin og canthaxanthin i laks.

Laksen ble filetert og den ene fileten ble lagret rå og den andre ble røykt med en "standard kommersiell prosedyre". Fileter ble analysert som rå og røykt, og rå-frosset/tint og røykt-frosset/tint etter lagring i vakuumposer (12 uker, -20°C). Rå-frosset/tint filet ble i etterkant saltet og røykt og analysert.

Filetfarge ble målt instrumentelt ved Minolta L\*a\*b\* og carotenoider målt kjemisk ved HPLC.

Fryselagring av rå filet i 12 uker førte ikke til noen signifikant endring i lyshet (L\*), rødhet (a\*) eller gulhet (b\*). Det ble heller ikke observert noen signifikant effekt av fryselagring på astaxanthininnholdet i rå filet (dag 0=9.39 mg/kg vs. uke 12=8.98 mg/kg) eller røykt filet (dag 0=8.54 mg/kg vs. uke 12=7.38 mg/kg).

Røyking av rå ufrosset fisk førte ikke til noe signifikant effekt på innholdet av astaxanthin, men røyking av frosset filet (12 uker) førte til en reduksjon i nivået av astaxanthin på 1.72 mg/kg (19%).

**No HK., Storebakken T. (1991). Color stability of Rainbow trout fillets during frozen storage.**

Forsøket undersøker fargestabiliteten av fileter under fryselagring.

Filetene ble lagret vakuumpakket i 6 måneder ved -20°C eller -80°C. Farge ble målt instrumentelt (Minolta L\*a\*b\*) og totalt carotenoidinnhold ble målt spektrofotometrisk.

Fryselagring førte til en generell økning i lyshet (L\*), rødhet (a\*) og gulhet (b\*) sammenlignet med rå ufrosset filet, der lagringstid (3 vs. 6 mnd) og -temperatur (-20 vs. -80°C) hadde mindre betydning på endringen i farge.

Med hensyn på stabiliteten av astaxanthin ble det observert et tap under lagring i intervallet 1-4%, der lagringstid og -temperatur hadde mindre betydning for stabiliteten av astaxanthin.

## 4 Oppsummering

### 4.1 Stress/utmattning: effekt på restblod og blodflekker i muskel

Flere av de refererte artiklene tar opp sammenhengen mellom stressing og utmattning av laks og torsk før/under slakting og hvordan dette påvirker utblødning, restblod i muskelen og blodflekker i filetene, både før og etter salting/røyking. Sammenfattet er konklusjonen at stressing/utmattning av fisken før avliving, sammen med høy temperatur, kan ha negativ effekt på utblødning og forekomst av blodflekker i filetene.

Robb et. al (2003) fant ingen klar trend/sammenheng mellom selve bløggemetoden og antall blodflekker i filetene etter salting og røyking. Det ble imidlertid konkludert med at det er andre forhold under slakting enn selve bløgge/sløyenettet som eventuelt må forklare ulik forekomst av blodflekker, slaktestress kan være en slik mulig faktor.

Olsen et. al (2006) fant at mengden av gjenværende blod i filetene var påvirket av bedøvings- og avlivingsmetode. De fant også at den modifiserte Hornsey (1956) metoden som ble brukt til å måle mengde blod i filet var godt egnet til dette.

Olsen et. al (2006) viste også at blodets koaguleringsstid er sterkt påvirket av temperatur. Ved lav temperatur ble koaguleringsstiden forlenget slik at blodet var flytende opp til 1 time, noe som sannsynligvis påvirker utblødningen positivt.

Olsen et. al (2008) fant at ubløgget torsk hadde mer restblod og flere blodflekker i filetene enn torsk som var bløgget. Det ble også påvist at torsk som ble påført slaktestress før bløgging/blodtapping hadde signifikant mer hem-pigment i hvit muskel (senterkutt og loins) enn torsk som ikke var påført slaktestress.

Olsen et. al (2008) undersøkt også om VIS/NIR spektroskopi kan være en egnet metode for å måle restblod i fileter. Det ble påvist korrelasjon mellom VIS/NIR spektroskopi og den kjemiske kontrollmetoden, som viser at det kan utvikles en spektroskopisk metode for hurtig måling av restblod i intakt fiskemuskel.

### 4.2 Stress/utmattning: og effekt på farge hos laks

Det ble funnet en del nyere arbeider som har undersøkt hvordan stressing og utmattning av laksefisk før slakting påvirker muskelfargen under lagring kjølt og frosset, men ikke etter bearbeiding som salting og røyking.

Robb et. al (2000) benyttet elektrisk stimulering *post-mortem* som metode for å simulere høy muskelaktivitet hos ørret. Elektrostimulering av 1,5 kg regnbueørret straks etter slakting forkortet pre-rigor tiden og påvirket muskelfargen slik at instrumentell måling viste at muskelen ble signifikant lysere og mindre rød. I likhet med instrumentell måling scoret også fisken som var elektrostimulert lavere på LaRoche fargekort med hensyn til rødhet. Det var også mer spalting i filetene som hadde vært elektrostimulert. Til sammen indikerer dette at elektrostimulering post-mortem reduserer muskelkvaliteten til fisk.

Kissling et. al (2004) fant at laks som var bedøvet i CO<sub>2</sub>, som gir stresset/utmattet fisk, instrumentelt målt under kjølelagring var mer rød, men også mer gul, enn laks som var bedøvet med Eugenol, som er anerkjent som en lite stressende bedøvingsmetode. CO<sub>2</sub> fisken var bløtere i muskelen. Instrumentell fargemåling av koteletter etter 12 mnd fryselagring bekreftet det samme, at kotelettene av laks som var bedøvet i Eugenol var fastere og mindre røde (blekere) enn koteletter av laks som var bedøvet med CO<sub>2</sub>. Disse resultatene står i motstrid til Robb et. al (2000) som fant at høy "muskelaktivitet" induisert ved elektrisk stimulering av laksemuskel post-mortem resulterte i signifikant lavere score vurdert ved La Roche fargekort, og lysere, mindre rød og mer gul muskelfarge målt instrumentelt.

Erikson et. al (2006) fant på dag 6 etter slakting signifikante høyere fargescore (LaRoche fargekort og SalmoFan) i laks som ble hentet direkte fra slaktemerd enn i laks som var pumpet, levendekjølt og eventuelt bedøvet med CO<sub>2</sub>, forskjellen var imidlertid liten.

Roth et. al (2006) sammenlignet 2 grupper laks, der en var uthvilt (ikke stresset) og den andre stresset (høy tetthet, pumping og CO<sub>2</sub> bedøving) før slakting. Etter avliving ble noen fisker fra hver av gruppene stimulert elektrisk. Instrumentell fargemåling (Hunter Lab) viste ingen signifikante forskjeller mellom stresset og ustresset laks som ikke var elektrisk stimulert post-mortem. Laksene som var stimulert elektrisk post-mortem var imidlertid rødere enn både stresset og ustresset laks som ikke var stimulert, med signifikant høyere score for rødfarge (a\*), gulfarge (b\*) og fargemetning.

Også i Roth et. al (2008) ble elektrisk stimulering post-mortem benyttet som metode for å simulere anaerob muskelaktivitet hos laks. Med hensyn til muskelfarge viser resultatene fra instrumentell fargemåling (Minolta) at laksefileter som ble elektrostimulert hadde signifikant høyere lyshetsverdi (L\*) sammenlignet med kontrollen. Det var ingen signifikante forskjeller i rødhet (a\*) og gulhet (b\*) mellom gruppene.

Mørkøre et. al (2008) registrerte mellom annet fargeutvikling i laksefilet under kjølelagring i 72 timer etter slakting. Fire råstoffgrupper ble fulgt: Sultet ustresset, sultet stresset, foret ustresset og foret stresset. Målt med RocheSalmoFan<sup>TM</sup> lå filetene i begge gruppene som var sultet høyere i fargescore (mer røde) enn de to gruppene som ikke var sultet. Gruppen som både var sultet og stresset lå gjennomgående høyest i fargescore av alle gruppene.

### **4.3 Stress/utmattning: effekt på andre kvalitesegenskaper generelt**

Bortimot samtlige av artiklene som er gjennomgått konkluderer med at stressing og utmattning av laks, torsk og andre arter før slakting senker muskel pH i den levende fisken og fremskynder rigorinngangen. Flere forsøk konkluderer også med at rigorperioden er kortere hos stresset/utmattet fisk enn hos uthvilt. Disse konsekvensene for rigorforløpet er nok de desidert best dokumenterte effektene av at levende fisk utsettes for ulike nivåer av slaktestress og utmattning.

Skjervold et. al (1999) konkluderer imidlertid med at selv om høy tetthet og levende kjøling før slakting begge førte til økning i stressindikatorer som cortisol, laktat og osmolalitet, så forsinket levendekjøling rigorinngangen og reduserte maksimal rigorstyrke, sammenlignet med laks som ikke ble kjølt levende.

I forhold til pre-rigor prosessering er effekten på *rigor mortis* kanskje den viktigste faktoren å ta hensyn til når det gjelder konsekvenser av at fisken blir stresset og utmattet før slakting. Det er nødvendig å ha tilstrekkelig pre-rigor tid til rådighet for filetering og trimming, slik at det ikke oppstår feilskjæring og spalting i filetene på grunn av at de blir bearbeidet i rigor. Med hensyn til å redusere krympingen av filetene under salting kan det imidlertid være en fordel at rigorutviklingen er kommet et stykke før saltet blir tilført i muskelen (Akse et. al 2008).

I diskusjon av resultatene i forsøket peker Robb et. al (2000) på at i en stresset fisk vil protein denaturere og bli uløselige, noe som forårsaket tap av vann fra muskelen. Økningen i uløselig protein er i dette tilfelle forårsaket av hurtig fall i pH, som er en godt dokumentert konsekvens av at fisk blir stresset og utmattet før slakting.

Kissling et. al (2004) viste i sitt forsøk at etter fryselagring i 12 måneder og tining hadde koteletter av laks som var stresset og utmattet før slakting signifikant høyere drypptap enn koteletter fra laks som slaktet uten stress/utmattning. De tinte kotelettene av laks som var stresset (CO<sub>2</sub> bedøvet) før slakting hadde lavere pH enn koteletter fra ustresset laks.

Tre dager etter slakting påviste Roth et. al (2006) signifikant høyere drypptap i laks som var stresset/utmattet før slakting (høy tetthet i 3 timer, pumpet og bedøvet i CO<sub>2</sub>). De fant ingen signifikant forskjell i drypptap mellom uthvilt laks som ble elektrostimulert post mortem og uthvilt laks som ikke ble elektrostimulert. I dette forsøket ble ikke pH målt, men i diskusjonen antydes det at også andre faktorer enn lav pH i den utmattede laksen kan ha medvirket til negative kvalitetsegenskaper.

Roth et. al (2008) påviste i dette arbeidet signifikant lavere initial muskel-pH og høyere drypptap i laksefileter som var stimulert elektrisk post-mortem for å simulere høy anaerob muskelaktivitet, for eksempel i forbindelse med slaktstress. Slutt-pH var lik i begge gruppene, både den som ble elektrostimulert og den som ikke ble det.

Mørkøre et. al (2008) påviste signifikant høyere drypptap i laks som ikke var sultet før slakting enn i laks som var sultet. I dette forsøket ble det ikke påvist signifikant forskjell i drypptap som følge av at laksen ble stresset før slakting, verken i sultet eller i ikke sultet fisk. Initial pH var lavest i stresset ikke sultet fisk, nest lavest i stresset sultet fisk, nest høyest i ikke sultet (ustresset fisk) og høyest i sultet (ustresset) fisk.

Skjervold et. al (1999) fant at muskelen hos laks som ble stresset ved høy tetthet (crowding stress) før slakting hadde fastere tekstur (høyere bruddstyrke) 5 døgn etter slakting, enn muskelen hos laks som ikke ble stresset på denne måten. Når laksen i tillegg til høy tetthet også ble levendekjølt økte bruddstyrken ytterligere. Det samme forsøket viste en tendens til at levendekjøling av fisken økte graden av filetspalting,

målt 5 døgn etter slakting. Laks som ble utsatt for høy tetthet hadde lavere glykogen og pH i muskelen ved slakting men høyere pH både 5 og 14 dager etter slakting, enn laks som ikke var utsatt for høy tetthet. Høy ultimativ muskel-pH (p.g.a lavt glykogen ved avliving) og hard tekstur betegnes i kjøttbransjen som DFD. Resultatene i dette og andre forsøk med fisk indikerer at lignende negative effekter på muskelkvalitet kan forekomme hos laks, forårsaket av stress og utmatting før slakting.

Kissling et. al (2004) fant at hos laks som var bedøvet skånsomt med Eugenol (lavt stress) før slakting var muskelen hardere (fastere), vurdert 5 døgn etter slakting, enn hos laks som var bedøvet med CO<sub>2</sub>, som er anerkjent som en stressende bedøvningsmetode. Til samme tidspunkt var det ingen signifikant forskjell i filetspalting. Disse resultatene indikerer at etter røyking ville man få et bløtere/mykere produkt av laksen som var stresset gjennom CO<sub>2</sub> bedøving enn av laksen som ble bedøvet uten stress med Eugenol. Dette står til dels i motstrid med resultatene i Skjervold et. al sitt forsøk som er referert ovenfor.

Også etter fryselagring i 12 mnd ved -25 °C i forsøket til Kissling et. al (2004) var teksturen etter tining av koteletter av laks som hadde vært bedøvet med CO<sub>2</sub> (stresset), mykere enn i tilsvarende koteletter av laks som var bedøvet med Eugenol. Muskel-pH var lavere i laksen som var bedøvet med CO<sub>2</sub> enn i den som var bedøvet med Eugenol (ref fig. 1). Resultatene fra teksturanalyse av de frosne/tinte prøvene var dermed tilsvarende som for de ferske prøvene (5 døgn *post-mortem*); i.e at målt kompressjonskraft var lavere (bløtere tekstur) prøvene fra fisk som hadde vært bedøvet med CO<sub>2</sub>.

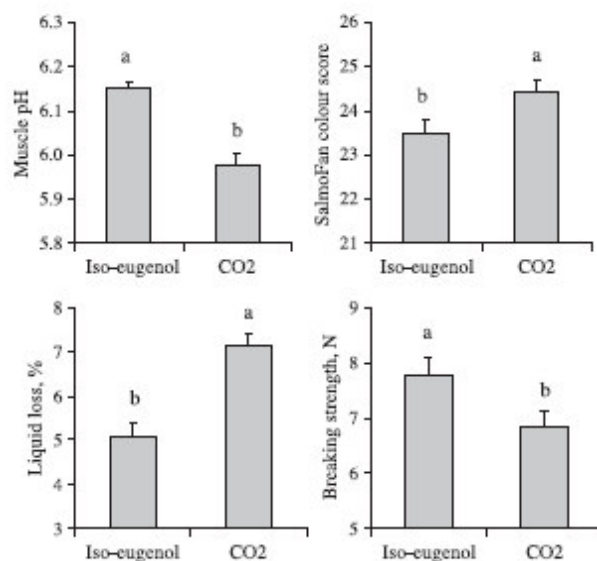


Fig. 2. pH, colour (RocheSalmofan™), liquid loss by centrifugation and texture (hardness measured as breaking strength with a flat ended cylindrical probe) in post-rigor-frozen (12 months, -25 °C) and then thawed (4 °C) cutlets of Atlantic salmon exposed to either iso-eugenol or CO<sub>2</sub> anaesthesia before slaughter. Error bars express standard error and different lower case letters at the bars of the same diagram signify significant differences ( $p < 0.05$ ).

**Figur 1.** Diagram og figurtekst er hentet fra Kissling, Espe, Ruhonen og Mørkøre 2004 og viser resultater etter tining i forsøket med stresset og ikke stresset laks som ble fryselagret i 12 måneder før tining.

#### **4.4 Prosessering/lagring: effekt på instrumentell farge**

Salting og røyking har en klar effekt på filetenes farge (lyshet, rødhet og gulhet). Generelt sett kan man si at prosesseringen fører til redusert lyshet, rødhet og gulhet sammenlignet med fargen av det anvendte uprosesserte råstoffet. Tørssalting påvirker fargeegenskapene mer enn lakesalting og injeksjonssalting, der økende saltetid forsterker de observerte endringene. Røyketemperatur å påvirke fargeegenskapene lite, men det er indikasjoner på at økende røyketemperatur kan føre til endringer i filetenes fargeegenskaper.

Det skal i denne sammenheng påpekes at det er vanskelig å sammenligne resultatene som finnes siden ulike instrumenter brukes til å måle farge (punktmåling) og et stort antall parametere kan påvirke resultatene som fremstilles.

Sensorisk vurdering av rå fileter av regnbueørret har vist at det forekommer en avbleking av farge under kjølelagring, der det ble vist at lagring i modifisert atmosfære førte til en større fargereduksjon (rød) sammenlignet med vakuumpakkning og i luft. Instrumentelle målinger av farge viser at fileter blir lysere ( $L^*$ ) ved lagring i vakuumpakkning i 15 dager.

Kjølelagring av vakuumpakket slicet røykt laks fører til en økning i filetenes lyshet, der eksponering for lys betyr lite for filetenes farge sammenlignet med fileter som ikke eksponeres for lys.

Fryselagring av uprosesserte fileter fører til en økning i filetenes lyshet og en redusert rødhet, der fileter som eksponeres for UV-lys har en større reduksjon i rødhet sammenlignet med fileter som lagres i vanlig lys eller i mørket. Det var ingen forskjell i farge mellom fileter lagret i vanlig lys og fileter lagret i mørke. Frysetemperatur (20 vs. 80°C) og frysetid (3 vs. 6 mnd) syntes å ha liten effekt på de observerte fargeendringene.

#### **4.5 Prosessering/lagring: effekt på retensjon av carotenoider (astaxanthin)**

Astaxanthin kan ekstraheres sammen med både vannløselige og saltløselige proteiner under modellbetingelser; ved tilnærmet nøytral pH og saltkonsentrasjoner opp til ca. 4M. Opp til ca. 21 % av den totale mengden carotenoid i muskelen ble ekstrahert ut sammen med proteiner i 1M saltlake.

Resultater viser at under prosessering vil det forekomme en oppkonsentrering av carotenoider på grunn av at vann fjernes fra filetene (tørking). I et av forsøkene ble det funnet at carotenoidinnholdet i røykte fileter hadde økt med ca. 36% sammenlignet med innholdet i rå fileter. Dette indikerer viktigheten av å korrigere for vektendringer under prosessering hvis man skal undersøke retensjonen av carotenoider gjennom en produksjonsprotokoll.

Ved korrigerende for vektendringer har det blitt vist at det gjennomsnittlig kan forsvinne 13 % av mengden astaxanthin i råstoffet gjennom en produksjonsprotokoll.



Saltetrinnet er den største bidragsyteren til nedbrytning/utvasking av carotenoider ved produksjon av røykte fileter.

Ved lagring av vakuumpakkede rå fileter (14 dager, 2°C) fra regnbueørret har det blitt funnet at opp til 34% av det totale innholdet av carotenoider brytes ned. Tilsvarende tall har blitt rapportert for nedbrytning av astaxanthin spesifikt; der 30% av astaxanthinet ble brutt ned etter lagring i vakuum (4°C) i 15 dager.

Fryselagring (6 mnd) av rå og røykt filet fører til en liten reduksjon (1-4%) i innholdet av astaxanthin i fileter fra laksefisk.

#### **4.6 Lipidoksidasjon og carotenoider i prosesserte produkter**

I den oppsummerte litteraturen er det ikke funnet noen klare sammenhenger mellom oksidasjon av lipider og nedbrytning av carotenoider, selv om det ble vist at et større tap av astaxanthin under lagring sammenfalt med en økning i TBARS-verdiene i ett av eksperimentene. En av forfatterne konkluderer som følger: "det kan ikke bekreftes at astaxanthin opererer som en scavenger av frie radikaler under lipidoksidasjon i de utførte forsøkene".

## 5 Referanseliste

Akse L, Birkeland S, Joensen S, Tobiassen T, Larsen R (2008) Injection-Salting and Cold-Smoking of Farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) and Atlantic Salmon at Different Stages of *Rigor Mortis*: Effect on Physical Properties. *Journal of Food Science* 73, 8, 2008, E378 – E 382.

Anderson, S. Salmon Color and the Consumer. 1-3. 2000. IIFET Conference.

Birkeland S, Bjerkeng B. 2004. Extractabilities of astaxanthin and protein from muscle tissue of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by brine concentration and pH. *Food Chemistry* 85:559-568.

Birkeland S, Bjerkeng B. 2005. The quality of cold-smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by salting method, time and temperature. *International Journal of Food Science and Technology* 40:963-976.

Birkeland S, Haarstad I, Bjerkeng B. 2004. Effects of Salt-curing Procedure and Smoking Temperature on Astaxanthin Stability in Smoked Salmon. *Journal of Food Science* 69:198-203.

Chen HM, Meyers SP, Hardy RW, Biede SL. 1984. Color Stability of Astaxanthin Pigmented Rainbow Trout Under Various Packaging Condition. *Journal of Food Science* 49:1337-1340.

Choubert G, Blanc JM, Courvalin C. 1992. Muscle Carotenoid Content and Color of Farmed Rainbow-Trout Fed Astaxanthin Or Canthaxanthin As Affected by Cooking and Smoke- Curing Procedures. *International Journal of Food Science and Technology* 27:277-284.

Choubert G, Dentella E, Atgie C, Baccaunaud M. 2005. Effect of light on colour stability of sliced smoked rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fed astaxanthin. *Food Research International* 38:949-952.

Christophersen AG, Bertelsen G, Andersen HJ, Knuthsen P, Skibsted LH. 1992. Storage Life of Frozen Salmonoids - Effect of Light and Packaging Conditions on Carotenoid Oxidation and Lipid Oxidation. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* 194:115-119.

Erikson U (1997) Muscle quality of atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by handling stress. Doctoral Thesis. Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway, p. 68.

Erikson U, Sigholt T, Seland A (1997) Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of Atlantic salmom (*Salmo salar*). *Aquaculture* 149 (1997) 243-252.

Erikson U, Sigholt T, Rustad T, Einarsdotter IE, Jørgensen L (1999) *Aquaculture Int.* 7 (101):115.

Erikson U, Hultmann L, Steen J.E (2006) Live chilling of Atlantic salmon (*Salmo salar*) combined with mild carbon dioxide anaesthesia. I. Establishing a method for large-scale processing of farmed fish. *Aquaculture* 252 (2006) 183-198.

Giuffrida A, Pennisi L, Ziino G, Fortino L, Valvo G, Marino S, Panebianco A (2007) Influence of Slaughtering Method on Some Aspects of Quality of Gilthead Seabream and Smoked Rainbow Trout. *Veterinary Research Communications* 31 (2007) 437-446.

Gobantes I, Choubert G, Gomez R. 1998. Quality of pigmented (astaxanthin and canthaxanthin) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets stored under vacuum packaging during chilled storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:4358-4362.

Henmi H, Hata M, Hata M. 1989. Studies on the Carotenoids in the Muscle of Salmon .2. Astaxanthin and Or Canthaxanthin-Actomyosin Complex in Salmon Muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55:1583-1589.

Henmi H, Iwata T, Hata M, Hata M. 1987. Studies on the Carotenoids in the Muscle of Salmon 1. Intracellular Distribution of Carotenoids in the Muscle. *Tohoku Journal of Agricultural Research* 37:101-111.

Holm K., Eikrem E. 1994. Ulike saltemetoders innvirkning på smak og tekniske egenskaper i røkt laks. MRFH-Studentoppgave, Møre og Romsdal Fiskeritekniske Høgskole, Ålesund.

Kissling A, Espe M, Ruhonen K, Mørkøre T (2004) Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO<sub>2</sub> anaesthesia. *Aquaculture* 236 (2004) 645-657.

Mørkøre T, Pablo I, Mazo T, Tahirovic V, Einen O (2008) Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 277 (2008) 231-238.

No HK, Storebakken T. 1991. Color Stability of Rainbow-Trout Fillets During Frozen Storage. *Journal of Food Science* 56:969-972.

Olsen S.H, Sørensen N.K, Stormo S.K, Elvevoll E.O (2006) Effect of slaughter methods on blood spotting and residual blood in fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 258 (2006) 462-469.

Olsen S.H, Sørensen N.K, Larsen R, Elvevoll E.O, Nilsen H (2008) Impact of pre-slaughter stress on residual blood in fillet portions of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) – Measured chemically and by Visible and Near-infrared spectroscopy. *Aquaculture* (2008), doi:10.1016/j.aquaculture.2008.07.042.

Poli B.M, Parisi G, Scappini F, Zampacavallo G (2005) Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International* (2005) 13: 29-49.

Robb DHF, Kestin SC, Warriss PD (2000) Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. *Aquaculture* 182 (2000) 261 – 269.

Robb DHF, Phillips AJ, Kestin SC (2003) Evaluation of methods for determining the prevalence of blood spots in smoked Atlantic salmon and the effect of exanguination method on prevalence of blood spots. *Aquaculture* 217, 125 -138.

Roth B, Moeller D, Veland JO, Imsland A, Slinde E (2002) *J Food Sci* 67 (1462):1466

Roth B, Slinde E, Arildsen J (2006) Pre or post mortem muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. *Aquaculture* 257 (2006) 504-510.

Roth B, Øines S, Rotabakk B.T, Birkeland S (2008) Using electricity as a tool in quality studies of Atlantic salmon. *Eur Food Res Technology* (2008) 227: 571-577.

Saha MR, Ross NW, Gill TA, Olsen RE, Lall SP. 2005. Development of a method to assess binding of astaxanthin to Atlantic salmon *Salmo salar* L. muscle proteins. *Aquaculture Research* 36:336-343.

Saha MR, Ross NW, Olsen RE, Lall SP. 2006. Astaxanthin binding to solubilized muscle proteins of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 144:488-495.

Sheehan EM, O'Connor TP, Sheehy PJA, Buckley DJ, FitzGerald R. 1998. Stability of astaxanthin and canthaxanthin in raw and smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *Food Chemistry* 63:313-317.

Skjervold P.O, Fjæra S.O, Østby Braarød P (1999) Rigor in Atlantic salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter. *Aquaculture* 175(1999) 93-101

Skjervold P.O, Fjæra S.O, Østby PB (1999) Rigor in Atlantic salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter. *Aquaculture* 175 (1999) 93-101.

Skjervold PO, Fjæra SO, Østby PB., Einen O. (2001) Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 192(2001)265-280.